

## The Role of Neural Tissue Engineering in the Repair of Nerve Lesions

Arash Abdolmaleki<sup>1,2\*</sup>, Asdollah Asadi<sup>3</sup>, Leila Taghizadeh Momen<sup>3</sup>, Shadi Parsi Pilerood<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Engineering Sciences, Faculty of Advanced Technologies, University of Mohaghegh Ardabili, Namin, Iran

<sup>2</sup>Bio Sciences and Biotechnology Research Center (BBRC), Sabalan University of Advanced Technologies (SUAT), Namin, Iran

<sup>3</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

### Article Info:

Received: 19 Sep 2019

Revised: 2 Dec 2019

Accepted: 1 Jan 2020

## ABSTRACT

**Introduction:** Tissue engineering is the science of tissue design for the healing and regeneration of tissue lesions. Peripheral nerves are typically in danger of physical injury. Peripheral nerve injuries can cause by construction and transport accidents, natural disasters, war-related injuries, and surgical complications. Spontaneous repair of the peripheral nerve is often incomplete, with poor functional recovery. Therefore, nerve tissue engineering researchers have invented scaffolds that can help neural tissue repair due to the type of conformation and their constituents. If the nerve gap in the peripheral nervous system is less than 1 cm in length, the two ends of the gap can be surgically connected, for larger gaps neural autograft is the gold standard. Applying autograft is restricted due to the deficiency of donor nerves and the requirement of multiple surgeries. The central nervous system is more challenging as the neural repair inhibitor environment is created after injury. Therefore, design of various scaffolds to facilitate nerve tissue repair and regeneration could be a promising method to overcome these problems. **Conclusion:** Nervous system tissue engineering using nerve scaffolds is one of the therapeutic approaches to replace damaged nerve tissue. To this end, this paper examines the properties of ideal scaffolds and the biomaterials used in scaffold construction, as well as the cells and growth factors appropriate for the treatment of nerve lesions.

### Key words:

1. Tissue Engineering
2. Peripheral Nerves
3. Central Nervous Sys tem
4. Regenerative Medicine

\*Corresponding Author: Arash Abdolmaleki

E-mail: Abdolmalekiarash1364@gmail.com

## نقش مهندسی بافت عصبی در ترمیم ضایعات عصبی

آرش عبدالملکی<sup>۱،۲\*</sup>، اسداله اسدی<sup>۲</sup>، لیلا تقی زاده مؤمن<sup>۲</sup>، شادی پارسی پيله رود<sup>۲</sup><sup>۱</sup>گروه علوم مهندسی، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه محقق اردبیلی، نمین، ایران<sup>۲</sup>مرکز پژوهشی علوم زیستی و زیست فناوری، دانشگاه فناوری‌های نوین سلان، نمین، ایران<sup>۳</sup>گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

## اطلاعات مقاله:

پذیرش: ۱۱ دی ۱۳۹۸

اصلاحیه: ۱۱ آذر ۱۳۹۸

دریافت: ۲۸ شهریور ۱۳۹۸

## چکیده

**مقدمه:** مهندسی بافت علم طراحی بافت برای بهبود و ترمیم ضایعات بافتی است. اعصاب محیطی به طور معمول در معرض آسیب فیزیکی هستند. آسیب‌های اعصاب محیطی می‌تواند در اثر حوادث ساختمانی و حمل و نقل، بلایای طبیعی، آسیب‌های ناشی از جنگ و عوارض ناشی از عمل جراحی ایجاد شوند. ترمیم خود به خودی عصب محیطی با بهبود عملکردی ضعیف معمولاً ناقص است. از این‌رو، محققان مهندسی بافت عصبی داربست‌هایی را ابداع کرده‌اند که با توجه به نوع کنفورماسیون و مواد تشکیل‌دهنده‌شان می‌توانند به ترمیم بافت عصبی کمک کنند. اگر شکافت عصبی به اندازه کوچک‌تر از یک سانتی‌متر طول در سیستم عصبی محیطی ایجاد شود، می‌توان دو انتهای شکاف را با عمل جراحی به یکدیگر پیوند زد، برای شکاف‌های بزرگ‌تر اتوگرافت عصبی استاندارد طلایی می‌باشد. استفاده از اتوگرافت به دلیل کمبود عصب‌دهنده و ضرورت انجام چندین عمل دارای محدودیت‌هایی می‌باشد. سیستم عصبی مرکزی چالش برانگیزتر است؛ چون پس از آسیب، محیط مهارکننده ترمیم عصبی به وجود می‌آید. بنابراین طراحی داربست‌های مختلف برای تسهیل ترمیم و بازسازی بافت عصبی می‌تواند یک روش امیدوارکننده برای رفع این مشکلات باشد. **نتیجه‌گیری:** مهندسی بافت سیستم عصبی با استفاده از داربست‌های عصبی یکی از رویکردهای درمانی به‌منظور جایگزینی بافت عصبی آسیب‌دیده است. بدین منظور این مقاله به بررسی ویژگی‌های داربست‌های ایده‌آل و مواد زیستی مورد استفاده در ساخت داربست‌ها، همچنین سلول‌ها و فاکتورهای رشد مناسب به‌منظور درمان ضایعات عصبی می‌پردازد.

## کلید واژه‌ها:

۱. مهندسی بافت
۲. اعصاب محیطی
۳. سیستم عصبی مرکزی
۴. پزشکی ترمیمی

\* نویسنده مسئول: آرش عبدالملکی

آدرس الکترونیکی: [Abdolmalekiarash1364@gmail.com](mailto:Abdolmalekiarash1364@gmail.com)

## مقدمه

را برای بررسی آسیب‌های عصبی ارائه می‌کند. سیستم عصبی از دو بخش سیستم عصبی مرکزی و سیستم عصبی محیطی تشکیل شده است. سیستم عصبی مرکزی از مغز، طناب نخاعی، شبکیه، عصب بویایی و عصب بینایی تشکیل شده است. این سیستم اطلاعات دریافت شده را پردازش می‌کند و فعالیت تمام بخش‌های بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سیستم عصبی محیطی در برگیرنده اعصاب مغزی (به طور مستقیم از مغز خارج می‌شوند)، اعصاب نخاعی (از طناب نخاعی خارج می‌شوند) و گره‌های عصبی می‌باشد. عملکرد اصلی این سیستم ایجاد ارتباط بین سیستم عصبی مرکزی و اندام‌ها می‌باشد. سیستم عصبی از دو نوع سلول نورون و نوروگلیا تشکیل شده است. نورون‌ها از اجزای اساسی ساختاری و عملکردی در سیستم عصبی هستند و از دندریت، جسم سلولی و آکسون به وجود آمده است. سلول‌های گلیال، سلول‌های غیر نورونی هستند که اطراف نورون‌ها را احاطه کرده و حمایت‌شان می‌کنند. همچنین برخلاف نورون‌ها توانایی تقسیم دارند. نوروگلیاها شامل سلول‌های شوان در سیستم عصبی محیطی، الیگودندروسیت‌ها و آستروسیت‌ها و میکروگلیاها در سیستم عصبی مرکزی هستند. الیگودندروسیت‌ها و سلول‌های شوان غلاف میلین می‌سازند. میلین ترکیبی چند لایه از غشای پلاسمایی می‌باشد که به صورت الکتریکی آکسون را عایق‌بندی می‌کند و باعث می‌شود تا پتانسیل عمل با سرعت بالایی و صرف حداقل انرژی هدایت شود. آستروسیت‌ها با سد خونی-مغزی همکاری کرده و سیستم عصبی مرکزی را از پروتئین‌ها و سلول‌های خونی جدا می‌کنند.

عصب محیطی شامل آکسون‌های حرکتی و حسی می‌باشد. اطراف هر یک از این آکسون‌های میلینه شده بافت هم‌بندی به نام اندونوریوم وجود دارد. اندونوریوم عمدتاً از الیاف کلاژن تشکیل شده است. مجموعه‌ای از این آکسون‌ها کنار هم جمع می‌شوند و فاسیکل را تشکیل می‌دهند. دور تا دور فاسیکل را بافت هم‌بندی به نام پری نوریوم فرا گرفته است. پری نوریوم از لایه‌های متعددی متشکل از سلول‌های مسطحی همچون فیبروبلاست و کلاژن به وجود آمده است. در نهایت چند فاسیکل دور هم جمع می‌شوند و باف هم‌بند اپی نوریوم اطراف آن‌ها را احاطه می‌کند. بین فاسیکل‌ها عروقی وجود دارند که مسئول تغذیه عصب هستند (تصویر ۱). طناب نخاعی از نواحی گردنی، سینه‌ای، کمری، خاجی و دنبالچه‌ای تشکیل شده است. در مرکز نخاع ناحیه پروانه‌مانندی به نام ماده خاکستری وجود دارد که از جسم سلولی نورون‌های تحریک‌کننده، سلول‌های گلیال و رگ‌های خونی به وجود آمده است. ماده خاکستری توسط ماده سفید احاطه شده است. ماده سفید شامل آکسون‌ها و سلول‌های گلیال می‌باشد. اعصاب اطراف نخاع دارای دو ریشه هستند:

اعصاب محیطی به طور معمول در معرض آسیب‌های فیزیکی هستند. معمولاً حوادث ساختمانی و حمل و نقل، بلایای طبیعی، آسیب‌های ناشی از جنگ و سایر تروماها مانند بیماری‌ها و عوارض ناشی از عمل جراحی باعث آسیب اعصاب محیطی می‌شوند (۱). به دنبال آسیب عصب محیطی یک سری وقایع پاتوفیزیولوژیک رخ می‌دهد که منجر به تحلیل والرین در قسمت دیستال و از بین رفتن بخش کوچکی از قسمت پروگزیمال آکسون می‌شود. ماکروفاژها و مونوسیت‌ها و سلول‌های شوان با یکدیگر غلاف میلین و بقایای آکسون را حذف می‌کنند. سلول‌های شوان تکثیر می‌یابند و پلی تحت عنوان نوار بونگنر<sup>۱</sup> را تشکیل می‌دهند. این سلول‌ها جهت تحریک بازسازی آکسون، مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی و فاکتورهای نوروتروفیک را به وجود می‌آورند. جوانه‌های آکسون توسط گره‌های رانویه و غلاف میلین جدید توسط سلول‌های شوان به وجود می‌آیند. جوانه‌های آکسون تا جایی رشد می‌کنند که آکسون بتواند دوباره وظایف خود را انجام دهد. ترمیم خود به خودی عصب محیطی تقریباً همیشه ناقص است و عملکرد عصب به طور کامل به حالت اولیه بر نمی‌گردد (۲، ۳). ضایعات سیستم عصبی مرکزی شامل سکتة مغزی، آسیب مغزی تروماتیک، آسیب طناب نخاعی و دژنراسیون شبکیة چشم می‌باشد. این ضایعات در اطفال اغلب به صورت نقص‌های تروماتیک یا مادرزادی است، در حالی که در بزرگسالان تروماتیک یا دژنراتیو می‌باشد. به دنبال آسیب سیستم عصبی مرکزی وقایعی همچون مرگ سلول‌های عصبی، تخریب زوائد عصبی و گلیولیز (افزایش بیش از حد تعداد سلول‌های گلیالی مثل آستروسیت، الیگودندروسیت و میکروگلیا) رخ می‌دهند. نورون‌ها توانایی تقسیم ندارند، بنابراین در صورت نابودی یک نورون، نورون جدیدی جایگزین آن نمی‌شود. در نتیجه سیستم عصبی مرکزی بر خلاف سیستم عصبی محیطی توانایی ترمیم ذاتی ندارد (۴). مهندسی بافت علم طراحی بافت برای بهبود و ترمیم ضایعات بافتی است. محققان مهندسی بافت عصبی داربست‌هایی را ابداع کرده‌اند که با توجه به نوع کنفورماسیون و مواد تشکیل دهنده‌شان باعث ترمیم بافت عصبی آسیب‌دیده می‌شوند. تهیه داربست زیستی مناسب با توجه به نوع آسیب کار پیچیده‌ای است. داربست‌ها مزایای بسیاری از جمله فراهم کردن بستر مناسب جهت رشد و طویل شدن آکسون، رشد سلول‌های پیوندی و تشکیل کانالی جهت انتشار فاکتورهای نوروتروفیک جهت تسریع رشد و هدایت آکسون‌ها دارند (۵، ۶).

## فیزیولوژی سیستم عصبی

فیزیولوژی سیستم عصبی چالش‌های منحصر به فردی

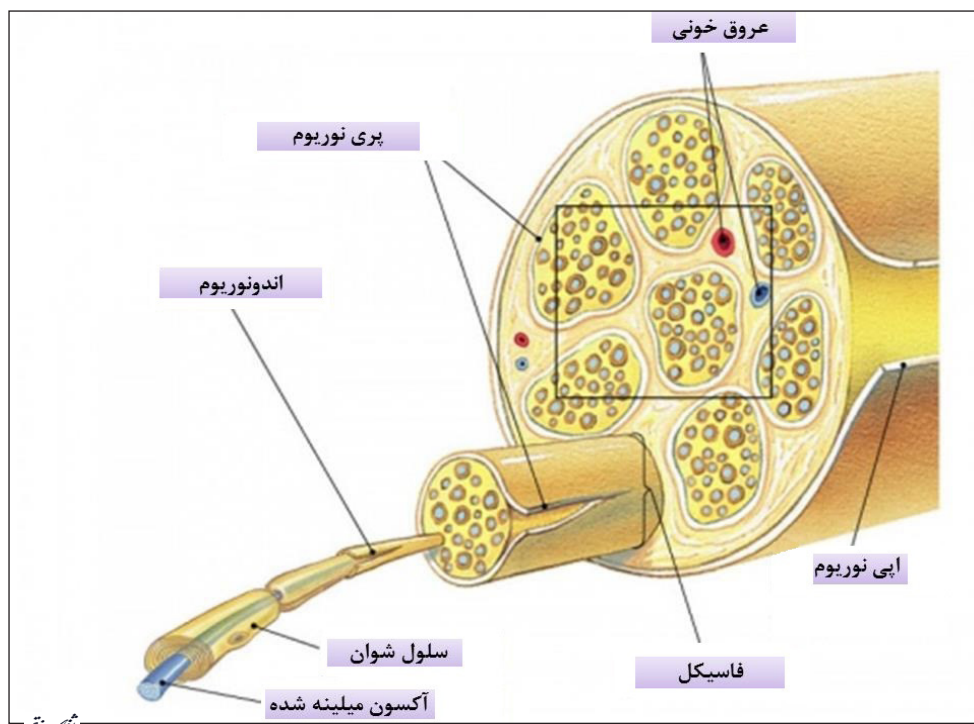
<sup>1</sup> Band of bungner

اگر شکافت عصبی به اندازه کوچک‌تر از ۱ یا ۲ سانتیمتر ایجاد شود، می‌توان دو انتهای شکافت را با عمل جراحی به یکدیگر پیوند زد. پیوند اتوگرافت عصبی استاندارد طلایی برای شکاف‌های بزرگ‌تر می‌باشد. استفاده از اتوگرافت به دلیل کمبود عصب‌دهنده و ضرورت انجام چندین عمل دارای محدودیت‌هایی می‌باشد. جایگزینی آلوگرافت و زونگرافت بجای اتوگرافت نیز با مشکل پس زدن پیوند و انتقال بیماری رو به رو می‌باشد. آسیب سیستم عصبی مرکزی چالش برانگیزتر است؛ چون پس از آسیب، محیط مهارکننده ترمیم عصبی در سیستم به

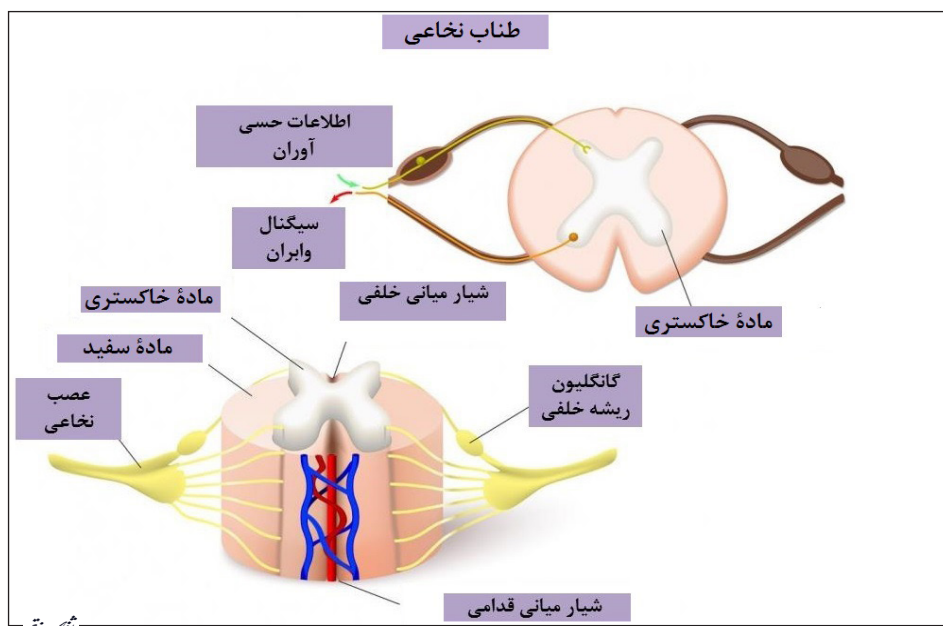
ریشه‌های شکمی و پشتی. ریشه شکمی سیگنال‌های حرکتی را از سیستم عصبی مرکزی به ماهیچه‌ها و غدد حمل می‌کند. ریشه پشتی سیگنال‌های حسی را به سمت سیستم عصبی مرکزی حمل می‌کند. گانگلیون‌های ریشه پشتی در طول ریشه پشتی قرار گرفته‌اند و از جسم سلولی نورون‌های حسی تشکیل شده‌اند (تصویر ۲) - (۸، ۷).

### داربست عصبی

در آسیب‌های ناشی از ترومای سیستم عصبی محیطی



تصویر ۱- ساختار آناتومیک یک عصب محیطی در سیستم عصبی محیطی (۷).



تصویر ۲- ساختار آناتومیک طناب نخاعی (۷).

مواد مغذی و گازها برای دستیابی به توزیع متعادل مایعات بین محیط بازسازی و بافت‌های اطراف و جلوگیری از افزایش فشار ناشی از بقای مایعات داشته باشد (۱۸). نفوذپذیری تشکیل ماتریکس فیبرینی را در طول اولین دوره ترمیم عصبی تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۹). نفوذپذیری داربست، به مواد زیستی تشکیل‌دهنده و روش‌های ساخت آن بستگی دارد (۲۰).

### ویژگی‌های زیست مکانیکی

هنگام ساخت داربست عصبی باید به سختی مکانیکی آن توجه شود تا نزدیک به سختی بافت عصبی باشد (۲۱). همچنین در برابر فشارهای فیزیولوژیکی داخل بدن در طول ترمیم عصبی مقاوم باشد و انعطاف‌پذیری کافی را داشته باشد تا بتواند بدون پیچ‌خوردگی خم شود. وجود تعادل بین انعطاف‌پذیری و سختی داربست امری ضروری است؛ چون داربستی که خیلی سخت باشد به آسانی از بین می‌رود و داربستی که انعطاف‌پذیری زیادی داشته باشد نمی‌تواند به اندازه کافی از فرایند ترمیم حمایت کند. خصوصیات زیست مکانیکی داربست عصبی به مواد زیستی تشکیل‌دهنده آن، فاکتورهای ابعادی مثل ضخامت دیواره، قطر لومن و مواد پرکننده لومن بستگی دارد (۶).

### معماری داربست

معماری داربست جنبه مهمی است که به هنگام طراحی سازه مهندسی بافت کنترل می‌شود (۲۲). در مقیاس ماکرو، داربست ساختار لوله‌ای و در مقیاس میکرو ساختار متخلخل سلسله مراتبی جهت رسیدن به تعادل بین نفوذپذیری و ویژگی‌های مکانیکی دارد (۲۳). استفاده از مواد زیستی نانوفیبری برای ساخت داربست‌های عصبی، ویژگی‌های شیمیایی منحصر به فردی از جمله ایجاد فضای بزرگ و مناسب جهت اتصال سلولی و رشد آن‌ها و انتشار سیگنال‌های توپوگرافیک مناسب جهت هدایت عملکردهای سلولی را ارائه می‌کند (۲۴، ۲۵).

### مواد زیستی سازنده داربست‌های عصبی در مهندسی بافت عصبی

مواد زیستی به موادی گفته می‌شود که با سیستم‌های زیستی جهت درمان، تقویت، ترمیم و یا جایگزینی هر بافت یا اندامی ارتباط برقرار می‌کنند (۲۵). دو دسته ماده زیستی شامل: پلیمرهای مصنوعی و پلیمرهای طبیعی در ساخت داربست‌های عصبی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

### پلیمرهای طبیعی

پلیمرهای طبیعی به ماکرو مولکول‌های بدن انسان شباهت دارند (۲۶). بسیاری از آن‌ها باعث ساخت داربست‌هایی حاوی بخش‌هایی جهت چسبندگی و

وجود می‌آید. درمان کاملاً مؤثری برای بهبود و احیای عملکرد سیستم عصبی مرکزی وجود ندارد (۹-۱۲). چنین مشکلاتی در ترمیم سیستم عصبی، محققان مهندسی بافت را برانگیخت تا داربست‌هایی را برای تسهیل ترمیم و بازسازی مجدد بافت عصبی طراحی کنند. هر داربستی با توجه به ویژگی‌های بافت هدف طراحی می‌شود تا در نهایت جایگزین بافت عصبی آسیب‌دیده شود. داربست باعث اتصال و مهاجرت سلول‌های عصبی، هدایت رشد جوانه آکسون از ناحیه پروگزیمال به دیستانال، نقل و انتقال فاکتورهای بیوشیمیایی، انتشار مواد غذایی و مواد زاید می‌شود (۱۳).

یکی از مهم‌ترین و پایه‌ای‌ترین مواردی که به هنگام طراحی داربست در نظر گرفته می‌شود، نوع ماده تشکیل‌دهنده آن است. در این قسمت ابتدا به بررسی ویژگی‌های داربست ایده‌آل و سپس خلاصه‌ای از مواد زیستی مورد استفاده در ساخت داربست می‌پردازیم.

### ویژگی‌های داربست ایده‌آل

#### زیست سازگاری

هر داربستی باید با محیط زیستی که در آن قرار می‌گیرد سازگاری داشته باشد. این سازگاری شامل سازگاری خونی، سازگاری بافتی و سازگاری مکانیکی است. در سازگاری خونی، داربست نباید منجر به همولیز، تخریب اجزای خونی و ترومبوس شود. در سازگاری بافتی، داربست نباید عوارض جانبی سمی بر روی بافت عصبی داشته باشد و منجر به تراژوژن یا جهش ژنی و پس زدن ایمنی شود. در سازگاری مکانیکی تطابق خواص مکانیکی بین داربست عصبی و بافت عصبی مورد توجه قرار می‌گیرد (۱۴، ۱۵).

#### زیست تخریب‌پذیری

یک داربست عصبی باید بتواند به صورت کنترل شده‌ای در داخل بدن تجزیه شود. ابتدا داربست‌ها را از مواد تخریب‌ناپذیری مثل سیلیکون و پلی‌اتیلن می‌ساختند و نتایج به دست آمده حاکی از ترمیم عصبی تا درجه خاصی بود. اگرچه در طول درمان‌های طولانی مدت باید عمل دومی جهت برداشتن داربست انجام می‌شد؛ چون ممکن بود تمایل داربست برای تسریع بازسازی زیان‌آور باشد (۱۶). برای حل این مشکل محققان توانسته‌اند داربست‌هایی از جنس مواد زیست تخریب‌پذیر بسازند. از طرفی یک داربست عصبی باید توانایی مقاومت در برابر تنش‌های مکانیکی حاصل از بافت‌های اطراف را داشته باشد. در نتیجه سرعت تخریب داربست باید با سرعت ترمیم مطابقت داشته باشد تا در طول ترمیم از بین نرود و پس از بازسازی به تدریج تخریب شود (۱۷).

#### نفوذپذیری

یک داربست عصبی باید نفوذپذیری کافی جهت تبادل

یک گلیکوز آمینوگلیکان خطی است و ترکیبی از N-استیل گلوکز آمین و اسید گلوکورونیک می باشد. در یک زنجیره تعداد این دی ساکارید به ۲۵۰۰ عدد می رسد. ترکیبی غیر سمی و تجزیه پذیر است که در درمان ضایعات سیستم عصبی محیطی و مرکزی مورد استفاده قرار می گیرد و باعث رشد آکسون ها و کاهش اتصال سلول های عصبی می شود (۳۳، ۳۴). یکی از معایب هیالورونیک اسید طبیعت محلول در آب بودن آن است. این ویژگی ساخت فرم تزریقی یک داربست پایدار را، بدون اضافه کردن ترکیبات اضافه مشکل می سازد (۲۷).

### فیبرونکتین

یک گلیکوپروتئین با وزن مولکولی بالاست که از پلاسمای گاو یا انسان به دست می آید و می تواند با کلاژن، فیبرین و هپارین اتصال برقرار کند. فیبرونکتین به شکل محلول در خون یافت می شود و با متراکم کردن فیبرونکتین داربست هایی برای ترمیم بافت عصبی ساخته می شود. این داربست ها دارای منافذی هستند که همه آن ها به یک سمت جهت گیری می کنند و باعث هدایت نورون های ترمیم یافته، فراهم آوردن بخش هایی برای چسبندگی سلولی، جذب فاکتورهای رشد و ذخیره آن ها به عنوان مخزن می شوند (۳۶).

### فیبرین

فیبرین به عنوان ماتریکس در ترمیم طبیعی زخم پس از آسیب شرکت می کند. پیش ساز آن یعنی فیبرینوژن می تواند از پلاسما جمع آوری شود. زمانی که ترومبین فیبرینوژن را به فیبرین تبدیل می کند، داربست های غیر کووالانسی فیبرین تشکیل می شود. مشابه کلاژن، داربست های فیبرینی نیز بخش هایی برای چسبندگی سلول دارند. ویژگی این داربست ها بستگی به غلظت فیبرین دارد (۳۶).

### پلیمرهای مصنوعی

ساخت داربست های مصنوعی زیست سازگار، زیست تخریب پذیر، هدایت گر و مقاوم به عفونت برای همکاری در رشد عصبی ضروری است (۳۷). مواد مصنوعی به طور گسترده ای برای ساخت داربست ها با طیف وسیعی از ویژگی های مکانیکی و سرعت تخریب مورد استفاده قرار می گیرند. این پلیمرها را می توان طوری طراحی کرد که پاسخ ایمنی به حداقل برسد (۳۷). پلیمرهای مصنوعی را می توان با یکدیگر ترکیب کرد تا ویژگی های منحصر به فرد هر یک با هم ادغام شوند.

### پلی اتیلن گلیکول

پلی اتیلن گلیکول با مقاومت در برابر جذب پروتئین و چسبندگی سلولی باعث به حداقل رساندن پاسخ ایمنی بعد از لانه گزینی می شود. این پلیمر غشای سلولی را پس از آسیب می بندد و در نتیجه باعث محدود کردن مرگ سلولی می شود. هیدروژل پلی اتیلن گلیکول

نفوذ سلول ها می شوند (۲۷). در این بخش به شرح برخی از این پلیمرها می پردازیم.

### آلژینات

آلژینات پلی ساکارید خطی مشتق از جلبک قهوه ای و محلول در آب است. معمولاً آلژینات به صورت نمک سدیم مورد استفاده قرار می گیرد و در اثر افزایش نمک های کاتیون های دو ظرفیتی مانند کلسیم و کاتیون های سه ظرفیتی مانند آلومینیوم باعث تشکیل پیوند یونی و تشکیل پیوند عرضی بین گروه های کربوکسیل زنجیره های پلیمری می شود و آلژینات به صورت ژل در می آید (۲۸). در صورت افزایش غلظت یون و به کار بردن کاتیون های دو ظرفیتی که میل ترکیبی بیشتری به آلژینات دارند، استحکام و قدرت مکانیکی پیوندهای یونی افزایش می یابد (۲۹). هیدروژل آلژینات به صورت تزریقی جهت کشت سلول و دارو رسانی مورد استفاده قرار می گیرد. داربست آلژینات می تواند حفره های موجود در مغز و نخاع آسیب دیده را پر کند و منجر به بازسازی و اتصال آکسون ها شود (۳۰).

### کیتوزان

کیتوزان پلی ساکارید زیست تخریب پذیری است که از داستیلاسیون کیتین به دست آمده از پوسته سخت پوستان تشکیل می شود. اخیراً با اضافه کردن نمک های پلی آل به خصوص گلیسرفسفات به محلول کیتوزان با pH خنثی، داربستی متخلخل با منافذی در مقیاس ماکرو به صورت ژل ساخته اند. هیدروژل کیتوزان/گلیسرفسفات باعث تشکیل یک محیط مشابه به ماتریکس خارج سلولی می شود و از کشت سه بعدی نورون حمایت می کند. بقای نورون ها نیز با اتصال کووالانسی پلی لیزین به کیتوزان افزایش می یابد. داربست تزریقی کیتوزان/گلیسرفسفات به همراه پلی لیزین در مهندسی بافت عصبی بسیار پر کاربرد است (۳۰).

### کلاژن

کلاژن از پروتئین های اصلی ماتریکس خارج سلولی است. از ۳ زنجیره پلی پپتیدی آلفا با یک یا چندمین مارپیچ سه تایی تشکیل شده است. از پستاندارانی همچون موش، گاو و انسان استخراج می شود. کلاژن تجزیه پذیر بوده و ظرف یک هفته تا یک ماه در بدن تجزیه می شود. با تعویض pH محلول کلاژن فرم ژل آن ساخته می شود. کلاژن به شکل هیدروژل در کشت سلولی جهت مشابه سازی خصوصیات ماتریکس خارج سلولی و حمایت از تمایز نورونی و رشد آکسون مورد استفاده قرار می گیرد. کلاژن دناتورده شده تحت عنوان ژلاتین شناخته می شود و برای ساخت داربست های بالقوه که حاوی بخش هایی جهت چسبندگی سلولی است، به کار برده می شود (۳۱-۳۳).

### هیالورونیک اسید

شده، پلی پیرول آلرژیک، تب، جهش، همولیز و سمیتی در بدن ایجاد نمی‌کند (۵۲).

### فاکتورهای رشد

فاکتورهای رشد پروتئین‌ها و پلی پپتیدهایی هستند که توانایی تنظیم تکثیر و تمایز سلولی را دارند. از آنجایی که ترمیم سیستم عصبی حاصل تلفیقی از روابط پیچیده بین سلول‌ها، مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی و فاکتورهای رشد است؛ فاکتورهای رشد در آسیب سیستم عصبی نقش حیاتی و پیچیده‌ای را در کنترل بقاء، تکثیر، انتقال و تمایز انواع مختلفی از سلول‌های دخیل در ترمیم عصبی ایفاء می‌کنند (۵۳).

فاکتورهای رشد ویژگی‌های مختلفی همچون فعالیت زیستی بالا، نیمه‌عمر کوتاه، نفوذ به بافت با سرعت پایین و سمیت بالقوه در سطوح سیستمیک بالا دارند (۵۴، ۵۵). به همین دلیل تحقیقات گسترده‌ای بر روی بهبود انتقال فاکتورهای رشد و رهایش کنترل‌شده آن‌ها در سیستم عصبی انجام شده است. در یک انتقال ایده‌آل باید به صورت یکپارچه بسیاری از جنبه‌های استفاده از فاکتورهای رشد اعم از توالی، زمان‌بندی، ناقل، مدت درمان و دوز فاکتور مورد استفاده را در نظر گرفت (۵۴، ۵۶، ۵۷).

### فاکتورهای نوروتروفیک

فاکتورهای رشد در سیستم عصبی تحت عنوان فاکتورهای نوروتروفیک شناخته می‌شوند. انواع مختلفی از این فاکتورها از جمله: نوروتروفین‌ها<sup>۱</sup>، فاکتور نوروتروفیک مشتق از رده سلول‌های گلیال<sup>۲</sup> و فاکتور نوروتروفیک مژکی<sup>۳</sup> وجود دارد (۶).

### نوروتروفین‌ها

نوروتروفین‌ها پروتئین‌هایی کوچک با وزن تقریباً ۱۳ کیلودالتون هستند که شامل: فاکتور رشد عصبی (NGF)<sup>۴</sup>، فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF)<sup>۵</sup>، نوروتروفین ۳ (NT-3)<sup>۶</sup> و نوروتروفین ۴/۵<sup>۷</sup> می‌باشند. نوروتروفین‌ها دو نوع گیرنده به نام p75 و خانواده تیروزین کیناز دارند و در میلین‌سازی نقش بسیار مهمی را ایفاء می‌کنند (۵۸). اگرچه مطالعات بر روی NT-3/۴/۵-کم‌تر از NT-3 می‌باشد؛ ولی از این فاکتور نیز برای تحریک ترمیم اعصاب محیطی آسیب‌دیده استفاده شده است. برای مثال، تزریق چسب فیبرینی حاوی NT-4 به اطراف بخش آسیب‌دیده اعصاب سیاتیک موش، باعث افزایش قابل توجهی در تعداد آکسون‌های ترمیم‌یافته، قطر آکسون، ضخامت غلاف میلین و همچنین بهبود چشم‌گیری در عملکرد این اعصاب شده است (۵۹).

آب‌دوست و تجزیه‌پذیر می‌باشد (۳۸-۴۱). کاربردی‌تر کردن پلی‌اتیلن گلیکول با تغییراتی در هیدروژل آن جهت تشکیل بخش‌هایی برای چسبندگی سلولی و فراهم آوردن مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی برای نفوذ سلول‌ها به داخل داربست محقق می‌شود (۴۲).

### پلی‌گلیکولیک اسید/پلی‌لاکتیک اسید/پلی‌لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید

پلی‌گلیکولیک اسید و پلی‌لاکتیک اسید، پلیمرهای مصنوعی زیست تخریب‌پذیری هستند که توانایی تشکیل پلی‌لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید را دارند (۴۳-۴۵). بعد از لانه‌گزینی، پیوندهای استری موجود در زمینه پلیمر به محصولات جانبی هیدرولیز می‌شوند. محصولات جانبی جذب بدن شده و باعث تغییر pH محیط اطراف کاشت می‌شوند. سرعت تخریب داربست با توجه به نسبت پلی‌گلیکولیک اسید به پلی‌لاکتیک اسید قابل تغییر است (۴۶).

### پلی ۲-هیدروکسی اتیل میناکریلات و پلی ۲-هیدروکسی اتیل میناکریلات-کو-متیل میناکریلات

پلیمرهای تجزیه‌ناپذیری هستند و داربست‌های ساخته شده از این پلیمرها پایدار باقی می‌مانند (۴۷-۴۹). این داربست‌ها می‌توانند به اشکال مختلفی از جمله کانال‌هایی که با دارو و یا پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی پر شده باشند درآیند (۴۸). استحکام و ویژگی‌های مکانیکی داربست را می‌توان با اضافه کردن لایه‌های متعددی از ۲-هیدروکسی اتیل میناکریلات تغییر داد (۵۰).

### پلی پیرول

پلی پیرول یک پلی‌استیلن هدایت‌کننده است. در بسیاری از زمینه‌ها مانند دارو رسانی، ترمیم عصبی و پوشش حسگر زیستی برای پروب‌های عصبی (الکترودها یا پروب‌های عصبی ابزاری برای ثبت پتانسیل عمل نوروها، تحریک نواحی خاص مغز و ادراک عملکرد مغز هستند) (۵۱)، استفاده از پلی پیرول به تنهایی به‌عنوان یک ماده ساختاری کار دشواری است. به همین دلیل باید تغییراتی روی آن انجام گیرد تا قابل پردازش و به صورت مکانیکی قابل کنترل باشد. پلی پیرول از چسبندگی سلولی و رشد انواع مختلفی از سلول‌ها حمایت می‌کند؛ به همین جهت ماده پرکاربردی در مهندسی بافت است. پلی پیرول زیست سازگاری خوبی دارد و ماده مناسبی برای ایجاد پل در شکاف‌های سیستم عصبی محیطی است. طبق مطالعات انجام

<sup>2</sup> Neurotrophin

<sup>3</sup> Glial cell line-derived neurotrophic factor

<sup>4</sup> Ciliary neurotrophic factor

<sup>5</sup> Nerve growth factor

<sup>6</sup> Brain-derived neurotrophic factor

<sup>7</sup> Neurotrophin-3

<sup>8</sup> Neurotrophin-4/5

جدول ۱- انواع نوروتروفین و سلول‌های هدف آن‌ها در سیستم عصبی مرکزی و محیطی (۶۰).

نوروتروفین	محیطی	مرکزی
فاکتور رشد عصبی	نورون‌های سمپاتیک، نورون‌های حسی؛ گانگلیون ریشه پستی	نورون‌های کولینرژیک قاعده مغز پیشین، نورون‌های کولینرژیک استریاتال، سلول‌های پورکنز
فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز	نورون‌های حسی، نورون‌های ریشه پستی	نورون‌های حرکتی نخاعی، نورون‌های کولینرژیک قاعده مغز پیشین، نورون‌های دوپامینرژیک سبستنسشیا نیگرا، نورون‌های حرکتی صورت، سلول‌های گانگلیون شبکه
نوروتروفین ۳	نورون‌های سمپاتیک، نورون‌های حسی	نورون‌های کولینرژیک قاعده مغز پیشین، نورون‌های لوکوس سرولئوس
نوروتروفین ۴/۵	نورون‌های سمپاتیک، نورون‌های حسی؛ گانگلیون ریشه پستی	نورون‌های کولینرژیک قاعده مغز پیشین، نورون‌های لوکوس سرولئوس، نورون‌های حرکتی، سلول‌های گانگلیون شبکه

محمدرحمتی

یک کانال هدایت عصبی با یک لوله توخالی<sup>۹</sup> باشد، انتقال بر پایه مخزن جهت انتشار موضعی فاکتورهای رشد مناسب است. در ۴ روشی که در پایین گفته شده از داربست با پیکربندی کانال هدایت عصبی استفاده شده است.

### فاکتورهای انحلال‌پذیر در لومن توخالی کانال هدایت عصبی

در مطالعاتی که بر روی شکاف ایجاد شده در عصب سیاتیک موش صحرایی انجام گرفته بود، مشاهده شد که کانال هدایت عصبی حاوی فاکتور رشد عصبی/محللول نمکی در مقایسه با کانال هدایت عصبی که تنها دارای فاکتور رشد عصبی بود، باعث ساخت آکسون‌های میلین‌دار بیش‌تر با ضخامت بیشتر غلاف میلین در ناحیه دیستال پس از گذشت ۴ هفته از زمان لانه‌گزینی شده است (۶۳). به طور کلی، فعالیت فاکتور رشد عصبی در محللول آبی به مدت طولانی حفظ نمی‌شود ولی تأثیر محللول فاکتور رشد عصبی در داخل کانال هدایت عصبی سیلیکونی تا ۲۸ هفته در عصب آسیب‌دیده صورت یک خرگوش ادامه داشته است (۶۴).

### استفاده از پمپ‌های کوچک اسموتیک یا تزریق مکرر

بوید و گوردون<sup>۱۰</sup> برای رهایش فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در مدل عصب آسیب‌دیده موش صحرایی، یک پمپ کوچک اسموتیک را به یک داربست از طریق کاتتر متصل کردند. (۶۵) آن‌ها مشاهده کردند که دوز پایین BDNF در ترمیم ضایعه عصبی تأثیر چندانی نداشته است ولی تأثیر خوبی در درمان نورون‌های حرکتی که در اثر آکسوتومی مزمن دچار کاهش توانایی در ترمیم شده بودند داشته است. نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داد که ترمیم نورون‌های حرکتی که دچار آکسوتومی مزمن شده بودند را می‌توان با تزریق مکرر فاکتورهای نوروتروفیکی مثل BDNF و GDNF، به طوری که در هر

### فاکتور نوروتروفیک مشتق از رده سلول‌های گلیال

این فاکتورها در بافت‌های مختلفی ساخته می‌شوند و بیان آن‌ها در بافت‌های غیرعصبی بیشتر از بافت‌های عصبی است. در سیستم عصبی مرکزی توسط آستروسیت‌ها و در سیستم عصبی محیطی توسط سلول‌های شوان ساخته می‌شوند. سلول‌های هدف این فاکتور شامل: نورون‌های دوپامینرژیک در مغز میانی و استریاتوم و نورون‌های حرکتی نخاعی در سیستم عصبی مرکزی، نورون‌های سمپاتیک و پاراسمپاتیک و نورون‌های حسی در سیستم عصبی محیطی می‌باشد (۶۰). در شکاف عصب سیاتیک ۱۵ میلی‌متری موش صحرایی، رهایش گلیال از داربست باعث افزایش ترمیم آکسون‌های حرکتی و حسی شده است (۶۱).

### فاکتور نوروتروفیک مژکی

این فاکتورها به هنگام تشخیص توانایی آن‌ها در حمایت از نورون‌های پاراسمپاتیک گانگلیون‌های مژکی کشف شدند. سلول‌های هدف این فاکتور شامل: نورون‌های گانگلیونی پاراسمپاتیک و نورون‌های سمپاتیک و نورون‌های حسی در سیستم عصبی محیطی، نورون‌های هیپوکامپ و نورون‌های کولینرژیک و گابارژیک در قاعده مغز پیشین در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد (۶۰). زمانی که CNTF انسانی نوترکیب به جراحی عصب سیاتیک موش صحرایی ۶ هفته‌ای تزریق شد؛ باعث افزایش طولیل شدن نوک آکسون به سمت ناحیه دیستال عصب و در نتیجه ترمیم آکسون گردید (۶۲).

### انتقال فاکتورهای رشد

راهبردهای موجود برای انتقال فاکتور رشد در سیستم عصبی محیطی با توجه به پیکربندی داربست‌های عصبی متفاوت است. اگر پیکربندی داربست به صورت

<sup>9</sup> Single hollow lumen nerve guidance conduit

<sup>10</sup> Boyd and Gordon

وجود سد خونی- مغزی مسیر انتقال مولکول‌های درمانی را در سیستم عصبی مرکزی پیچیده می‌کند (۷۴). انتقال مستقیم مولکول‌های درمانی به سیستم عصبی از طریق سیستم دارو رسانی (۷۵) و پیوند سلول‌ها با و یا بدون کپسول‌اسیون از جمله روش‌های ترمیم سیستم عصبی است (۷۶). ترکیبی از پیوند سلولی و انتقال فاکتورهای رشد نوروتروفیک برای درمان بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی<sup>۱۱</sup> که حاصل از دست دادن سلول‌های عصبی می‌باشند، مفید است (۷۸، ۷۷).

ماکرو کپسول‌هایی با ساختار لوله‌ای فیبری توخالی و از جنس پلی (آکرونیتریل کو وینیل کلرید) که حاوی سلول‌های محبوس شده هستند، منبعی مناسب برای انتقال فاکتورهای رشد جهت درمان بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی به شمار می‌آیند. سلول‌های کپسوله شده منبعی دایمی از فاکتورهای نوروتروفیک را تا زمانی که سلول‌ها باقی بمانند، فراهم می‌کنند. غشای پلیمری قابل کنترل کپسول باعث جلوگیری از تماس با برخی از اجزای ایمنی میزبان و تسهیل پیوند سلول‌های آلوژنیک و زونژنیک به سیستم عصبی مرکزی بدون سرکوب ایمنی می‌شود. تغییرات ژنتیکی انجام شده بر روی سلول‌های کلیه نوزاد همستر باعث شد تا سلول‌ها بتوانند NGF انسان را ترشح کنند که برای درمان بیماری آلزایمر و هانتینگتون مورد استفاده قرار گرفت (۷۹، ۸۰). به علاوه، این سلول‌ها برای ترشح GDNF جهت درمان بیماری پارکینسون و ترشح فاکتور نوروتروفیک مژکی انسان برای درمان بیماری ALS به همراه تأثیرات ترمیم‌کننده روی عملکرد نورون، تحت تغییرات ژنتیکی قرار گرفتند (۸۱، ۸۲). از دیگر اثرات حاصل از تغییرات ژنتیکی در سلول‌های کپسوله شده کلیه نوزاد همستر، ترشح NGF برای بقای نورون‌های کولینرژیک سپتال آکسوتومی شده در مغز موش و ترشح GDNF جهت بقا و حفظ عملکرد نورون‌های دوپامینرژیک اولیه پیوندی در استریاتوم موش بالغ می‌باشد (۷۷، ۸۳). از کانال هدایت عصبی نیز می‌توان برای ترمیم سیستم عصبی مرکزی استفاده کرد. در یک مدل آزمایشگاهی مشاهده شد که پیوند یک کانال هدایت عصبی ساخته شده از پلی (آکرونیتریل کو وینیل کلرید) با پوسته داخلی نرم و نیمه تراوا که حاوی سلول‌های شوان و پمپ‌های کوچک اسموتیک متشکل از BDNF و نوروتروفین ۳ بود به ناحیه میانی قسمت سینه‌ای طناب نخاعی موش بالغ، باعث افزایش ترمیم آکسون‌های پروپریو اسپاینال و به طور قابل توجهی ترمیم نورون‌های ساقه مغز شد (۸۴، ۸۵).

سلول‌های به کار برده شده در مهندسی بافت عصبی

بار تزریق دوز پایینی از فاکتورهای رشد استفاده شود، در طولانی مدت ارتقا داد. همچنین تزریق فاکتورهای رشد با یکدیگر نسبت به تزریق جداگانه‌شان تأثیر بیش‌تری بر روند ترمیم نشان می‌دهد (۶۶). یک مثال رایج از انتقال فاکتور رشد به روش تزریق مکرر، به کار بردن یک ابزار تزریقی برای تزریق روزانه NGF به یک شکاف اپی نورئال با یک مخزن سیلیکونی در مدل عصب سیاتیک آسیب‌دیده موش می‌باشد که NGF باعث افزایش ترمیم عصبی شد (۶۷، ۶۸). از جمله چالش‌هایی که موانعی در برابر دو روش گفته شده به شمار می‌آیند عبارتند از: ضرورت انجام عمل جراحی برای برداشتن پمپ کوچک اسموتیک و ابزار تزریقی بعد از درمان، اشغال فضایی با اندازه مشخص توسط ابزار مورد استفاده و مشکلات فنی که اتصال کاتتر به همراه می‌آورد (۶۷).

### انتقال از طریق دیواره داربست

یک راه ساده برای انتقال فاکتورهای رشد از دیواره داربست، استفاده از بسترهای فیبرونکتین حاوی NGF در اطراف شکاف عصب سیاتیک موش می‌باشد که به طور قابل توجهی ترمیم عصبی را در مقایسه با بسترهای بدون NGF افزایش می‌دهند (۶۹). برای انتقال بهتر داربست‌ها اغلب از یک کانال هدایت عصبی محکم با استحکام مکانیکی خوب و متشکل از یک سیستم دارو رسانی یکپارچه با پوشش دارویی و یا اتصال داروها به داخل یا بیرون کانال هدایت عصبی با پیوند کووالانسی استفاده می‌شود. در این روش فاکتورهای رشد به طور مداوم از دیواره کانال هدایت عصبی آزاد می‌شوند چرا که این فاکتورها به هنگام ساخت داربست روی دیواره آن قرار گرفته‌اند (۷۰).

### انتقال از طریق میکروسفرها

میکروسفرها ذرات کوچک کروی با قطر بین یک تا چند صد میکرومتر می‌باشند و از پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر به روش تخییر حلال و دیگر روش‌ها ساخته می‌شوند (۷۱). میکروسفرهای حامل فاکتورهای رشد باعث انعطاف‌پذیری در انتقال و محل انتقال می‌شوند. میکروسفرها را می‌توان به فضای لومن و یا به دیواره داربست جهت ترمیم عصب محیطی قرار داد. برای مثال، رهایش NGF کپسوله شده در میکروسفر پلی فسفواستری به صورت آزمایشگاهی ۷۰ روز طول می‌کشد (۷۲). زمانی که این میکروسفرها در یک داربست از جنس پلی فسفواستر یا سیلیکون برای ترمیم یک شکاف ۱۰ میلی‌متری عصب سیاتیک موش به کار گرفته می‌شوند، فیبرهای بیشتر و متراکم‌تری را نسبت به داربست‌هایی با فضای خالی و یا داربست‌های میکروسفرداری که میکروسفرها تنها حاوی آلبومین سرم گاو هستند، تولید می‌کنند (۷۳).

<sup>11</sup> Neurodegenerative

عصبی انجام می‌دهند (۹۴-۹۰). علی‌رغم استفاده از سلول‌های شوان به‌عنوان مهم‌ترین سلول‌های پشتیبانی در پیوند عصبی مهندسی شده، سلول‌های شوان اتولوگ با تعداد زیاد به‌سختی به دست می‌آیند و سلول‌های شوان آلوژنیک توسط میزبان پس‌زده می‌شوند؛ بنابراین استفاده از سلول‌های بنیادی با قابلیت تمایز به سلول‌های شوان از جمله سلول‌های بنیادی مزانشیمی، در ترمیم سیستم عصبی محیطی مورد توجه محققان قرار می‌گیرد (۹۸-۹۵).

### سلول‌ها بنیادی رویانی

سلول‌های بنیادی رویانی<sup>۱۸</sup>، سلول‌های پرتوان تمایز نیافته‌ای هستند که از توده سلولی درونی بلاستوسیت رویان به دست می‌آیند. این سلول‌ها دارای ظرفیت نامحدودی در خود نوزایی بوده و قابلیت تمایز به هر نوع سلولی در بدن را دارند (۹۹). از سلول‌های بنیادی رویانی برای درمان بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی مانند پارکینسون و آلزایمر نیز استفاده می‌شود (۱۰۰). تحقیقات گسترده‌ای درباره کاشت سلول‌های بنیادی رویانی جهت درمان بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی انجام گرفته است. اگرچه توانایی سلول‌های بنیادی رویانی در درمان جراحی سیستم عصبی محیطی ناشناخته است، ولی از نظر ژنتیکی باور بر این است که سلول‌های نورونی مشتق از سلول‌های بنیادی رویانی، سلول‌های پشتیبان مناسبی برای کاشت در داربست‌های عصبی جهت ترمیم عصب محیطی می‌باشند (۱۰۳-۱۰۱). احتمال تومورزایی، پاسخ ایمنی و نگرانی‌های اخلاقی از معایب به‌کارگیری این سلول‌ها می‌باشند (۸۹).

### سلول‌های بنیادی عصبی و سلول‌های پیش‌ساز بنیادی عصبی

سلول‌های بنیادی عصبی<sup>۱۹</sup>، سلول‌های چندتوانی هستند که در تمام مراحل نمو نورو و دوران بلوغ حضور دارند (۱۰۴). سلول‌های بنیادی عصبی قابلیت تمایز به آستروسیت، الیگودندروسیت، سلول‌های شوان و نورو را دارند. آن‌ها می‌توانند در پاسخ به جراحی عصبی بدون هیچ محدودیتی تکثیر یابند. توانایی تمایز به انواع سلول‌ها، قابلیت بالای مهاجرت، دسترسی آسان به سلول‌ها، راحتی کشت آن‌ها در حالت آزمایشگاهی و ایمونونیسیتته پایین سلول‌ها، آن‌ها را منبع خوبی برای استفاده در مهندسی بافت کرده است (۱۰۵). با اصلاحات ژنتیکی می‌توان سلول‌های بنیادی عصبی را به منبع فاکتورهای نوروتروفیک تبدیل کرد (۱۰۶، ۱۰۷).

سلول‌های بنیادی عصبی کاشته شده در داربست عصبی

نوع منبع سلولی اتولوگ<sup>۱۲</sup>، آلوژنیک<sup>۱۳</sup> و زنوژنیک<sup>۱۴</sup> در مهندسی بافت استفاده می‌شود. سلول‌های اتولوگ از خود بیمار گرفته شده و در خارج از بدن بیمار کشت داده می‌شوند. سپس در محل جراحی بیمار دوباره کاشته می‌شوند. این منبع سلولی از نظر ایمنی مناسب است، زیرا در برابر سلول‌های خود بیمار هیچ‌گونه پاسخ ایمنی ایجاد نمی‌شود. اگرچه منبع اتولوگ نیز محدودیت‌های خاص خود را دارد. جهت استفاده از سلول‌ها و اندام‌های خود بیمار بایستی قسمت بزرگی از پوست برداشته شود و این عمل بسیار دردناک است. محدود بودن تعداد سلول‌های اتولوگ قابل برداشت نیز از دیگر محدودیت‌ها می‌باشد. جهت استفاده از منبع آلوژنیک نیاز به سرکوب سیستم ایمنی میزبان یا به‌کارگیری روش‌های دیگر برای کاهش پاسخ ایمنی در برابر این سلول‌ها است. موفقیت‌های حاصل از این منبع سلولی محدود است. یکی از پیوندهای مبتنی بر سلول‌های آلوژنیک که به طور گسترده استفاده می‌شود، آپلیگرافت<sup>۱۵</sup> نام دارد. در استفاده از منبع سلولی زنوژنیک نیز احتمال پاسخ ایمنی و رد پیوند توسط میزبان وجود دارد (۸۶). یک سلول ایده‌آل دارای ۳ ویژگی می‌باشد: (۱) دسترسی آسان به منبع آن و عدم وجود نگرانی‌های اخلاقی (۲) توانایی تکثیر و تولید انبوهی از سلول‌ها را داشته باشد (۳) از منبعی باشد که برای به حداقل رساندن رد سلول‌های پیوندی نیاز به سرکوب سیستم ایمنی نباشد. در نتیجه بهتر است از منبع اتولوگ باشد (۸۷).

از جمله سلول‌های مورد استفاده در ترمیم سیستم عصبی شامل سلول‌های شوان، سلول‌های بنیادی رویانی، سلول‌های بنیادی عصبی، سلول‌های پیش‌ساز بنیادی عصبی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های بنیادی پرتوان القایی<sup>۱۶</sup> می‌باشد. سلول‌ها را می‌توان از طریق تزریق سیستمیک و تزریق موضعی به ناحیه جراحی پیوند زد. همچنین استفاده از داربست زیستی جهت افزایش بقای سلول و فراهم آوردن ماتریکس خارج سلولی در پیوند سلولی بسیار مورد توجه محققان قرار می‌گیرد (۸۸، ۸۹).

### سلول‌های شوان

سلول‌های شوان<sup>۱۷</sup> از سلول‌های گلیال اصلی سیستم عصبی محیطی می‌باشند و نقش مهمی در بقاء و عملکرد نوروها دارند. فراهم کردن محیط مناسب برای رشد آکسون‌ها، ترشح انواع فاکتورهای رشد، ساخت مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی مانند کلاژن و لامینین، فاگوسیتوز میلین باقیمانده و ساخت میلین برای آکسون‌های جدید از جمله فعالیت‌هایی هستند که سلول‌های شوان در پاسخ به جراحی

<sup>12</sup> Autologous

<sup>13</sup> Allogenic

<sup>14</sup> Xenogeneic

<sup>15</sup> Apligraf

<sup>16</sup> Induced Pluripotent stem cell

<sup>17</sup> Schwann cell

<sup>18</sup> Embryonic stem cell

<sup>19</sup> Neural stem cell

می‌گیرند (۱۲۹، ۱۲۸). پیوند سلول‌های شوان مانند به عصب سیاتیک آسیب‌دیده موش صحرایی باعث ساخت میلین و تحریک ترمیم عصب می‌گردد (۱۲۹). ساخت فاکتورهای نوروتروفیک توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی باعث به تأخیر انداختن مرگ سلولی و ترمیم بافت عصبی می‌گردد (۱۳۲-۱۳۰).

### سلول‌های بنیادی پرتوان القایی

سلول‌های بنیادی پرتوان القایی از سلول‌های سوماتیکی مانند فیبروبلاست و از طریق افزایش بیان ژن‌های خاص (Oct3/4، c-Myc، Sox2 و Klf4) و فعال کردن ژن‌های پرتوان به دست می‌آیند. استفاده از سلول‌های سوماتیکی خود بیمار از پس زدن پیوند جلوگیری می‌کند. استفاده از سلول‌های بنیادی پرتوان تحت عنوان سلول‌های بنیادی پرتوان مشتق از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی در ترمیم عصبی بسیار مؤثر می‌باشد (۱۳۳). تمایز سلول‌های بنیادی پرتوان مشتق عصبی به سلول‌های شوان باعث ساخت میلین و ترمیم جراحی سیستم عصبی محیطی می‌گردد. به دلیل پایین بودن نرخ بقای سلول‌های شوان و نوروئیت‌های بالغ در محیط کشت، سلول‌های بنیادی پرتوان مشتق عصبی منبع مناسبی برای استفاده در مهندسی بافت می‌باشند (۸۹).

### نتیجه‌گیری

به‌منظور بازسازی موفقیت‌آمیز بافت عصبی، داربست‌های عصبی به‌منظور هدایت جکسون معرفی شدند. با این حال، استفاده از داربست فیزیکی ساده برای اتصال مجدد بافت آسیب‌دیده در یک جراحی در اندازه بحرانی کافی نیست. از این رو، احیای موفق عصب نیازمند داربست‌های مهندسی شده است که علاوه بر اینکه پشتیبانی مکانیکی برای رشد جوانه‌های آکسونی را فراهم می‌کند، از تشکیل بافت اسکار در محل آسیب نیز جلوگیری می‌کند. همچنین سیگنال‌های بیولوژیکی را برای هدایت مخروط رشد آکسون به سمت بخش دیستال عصب فراهم می‌آورند. از آنجایی که ترمیم سیستم عصبی حاصل تلفیقی از روابط پیچیده بین سلول‌ها، مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی و فاکتورهای رشد است. شواهد تحقیقاتی نشان می‌دهند که استفاده از یک روش درمانی به‌منظور ترمیم جراحی اعصاب محیطی نتیجه مطلوبی نخواهد داشت. از این رو مهندسی بافت سیستم عصبی با استفاده از داربست‌های عصبی یکی از رویکردهای درمانی به‌منظور جایگزینی بافت عصبی آسیب‌دیده است. بدین منظور در این مقاله ویژگی‌های داربست‌های ایده‌آل و مواد زیستی مورد استفاده در ساخت داربست‌ها، همچنین سلول‌ها و فاکتورهای رشد مناسب به‌منظور درمان ضایعات عصبی بررسی و مورد مطالعه قرار گرفت.

کیتوزانی، برای ترمیم شکاف ۱۰ میلی‌متری عصب صورت خرگوش مورد استفاده قرار گرفت و اثر ترمیمی این سلول‌ها ۱۲ هفته بعد از کاشت داربست مانند اثر ترمیمی پیوند عصبی اتولوگ بود (۱۰۸). مطالعات نشان داده‌اند که این سلول‌ها در درمان سکتۀ مغزی، مالتیپل اسکلروز و دیگر بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی نقش ترمیمی دارند (۸۶).

سلول‌های پیش‌ساز بنیادی عصبی<sup>۲۰</sup> در سیستم عصبی مرکزی بالغ و جنینی در منطقه زیر بطنی بطن‌های جانبی (۱۱۰، ۱۰۹)، منطقه زیر گرانولار در هیپوکامپ (۱۱۲، ۱۱۱) و لایۀ اپن‌دیمال کانال مرکزی طناب نخاعی مستقر هستند (۱۱۴، ۱۱۳). این سلول‌ها در بزرگسالی تکثیر یافته و بالغ می‌شوند (۱۱۵). سلول‌های پیش‌ساز بنیادی عصبی از سیستم عصبی مرکزی بالغ و جنینی به دست می‌آیند و تعدادشان در محیط کشت افزایش می‌یابد. شواهد حاصل از پیوند سلول‌ها به مدل‌های حیوانی که دچار جراحی یا بیماری در سیستم عصبی مرکزی شده بودند، نشانگر توانایی سلول‌های پیش‌ساز بنیادی عصبی در بقاء و تمایز به انواع سلول‌ها در سیستم عصبی مرکزی، ترمیم بافت و بهبود عملکرد عصبی می‌باشد (۱۱۷، ۱۱۶). سلول‌های پیش‌ساز بنیادی عصبی بالغ بعد از پیوند به مغز آسیب‌دیده، بقای کمتری از سلول‌های پیش‌ساز بنیادی عصبی جنینی دارند (۱۱۹، ۱۱۸) و بیشتر سلول‌های پیوندی در درون بدن به آستروسیت‌ها تمایز می‌یابند (۱۲۱، ۱۲۰). تحویل سلول‌های بنیادی عصبی یا سلول‌های پیش‌ساز به همراه کندروئیتیناز ABC و فاکتورهای رشد باعث افزایش بهبود عملکرد در موش صحرایی که دچار جراحی طناب نخاعی مزمن شده بود، گردید. کندروئیتیناز ABC از طریق از بین بردن کندروئیتین سولفات پروتئوگلیکان موجود در اسکار گلیال و بهبود عملکرد سلولی، بدن میزبان را برای پیوند آماده می‌کند (۱۲۲).

### سلول‌های بنیادی مزانشیمی

سلول‌های بنیادی مزانشیمی<sup>۲۱</sup> مغز استخوان یا سلول‌های استرومال مغز استخوان، سلول‌های بنیادی پرتوانی هستند که در بخش استرومال مغز استخوان قرار گرفته‌اند و از خونسازی پشتیبانی می‌کنند (۱۲۶-۱۲۳). سلول‌های بنیادی مزانشیمی استخوانی را می‌توان از بافت فولیکول مو، بافت چربی، بافت جنینی و پالپ دندان‌ها به دست آورد (۱۲۷). از جمله توانایی‌های سلول‌های بنیادی مزانشیمی شامل تمایز به سلول‌های بالغ و قدرت تکثیر بالا، تمایز به سلول‌های شوان مانند، ترشح فاکتورهای رشد یا دیگر مواد حد واسط محلول، به‌عنوان ابزاری برای تحویل داروی پروتئینی<sup>۲۲</sup> به‌کاربرده می‌شوند و در ژن‌تراپی نیز مورد استفاده قرار

<sup>20</sup> Neural stem progenitor cell

<sup>21</sup> Mesenchymal stem cell

<sup>22</sup> Protein drug

## منابع

1. Noble J, Munro Ca, Prasad Vs, Midha Rjjot, Surgery Ac. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *J Trau Acute Care*. 1998; 45(1): 116-22.
2. Artico M, Cervoni L, Nucci F, Giuffre Rjn. Birthday of peripheral nervous system surgery: the contribution of Gabriele Ferrara (1543–1627). *Neurosurgery*. 1996; 39(2): 380-3.
3. Battiston B, Papalia I, Tos P, Geuna Sjiron. Peripheral nerve repair and regeneration research: a historical note. *Int Rev Neurobiol*. 2009; 87: 1-7.
4. Lee B, Cripps R, Fitzharris M, Wing PJSc. The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: update 2011, global incidence rate. *Spinal Cord*. 2014; 52(2): 110-6.
5. Wang Y, Tan H, Hui XJBri. Biomaterial scaffolds in regenerative therapy of the central nervous system. *Biomed Res Int*. 2018; 2018.
6. Gu X, Ding F, Yang Y, Liu J. Tissue engineering in peripheral nerve regeneration. *Neural Regeneration*: Elsevier; 2015. p. 73-99.
7. Schmidt CE, Leach JBJArobe. Neural tissue engineering: strategies for repair and regeneration. *Annu Rev Biomed Eng*. 2003; 5(1): 293-347.
8. Raz A, Perouansky M. Central nervous system physiology: neurophysiology. *Pharmacology and Physiology for Anesthesia*: Elsevier. 2019; p. 145-73.
9. Trumble TE, Shon FGJHc. The physiology of nerve transplantation. *Hand Clin*. 2000; 16(1): 105-22.
10. Platt JL, Vercellotti GM, Dalmaso AP, Matas AJ, Bolman RM, Najarian JS, et al. Transplantation of discordant xenografts: a review of progress. *Immunol Today*. 1990; 11(12): 450-6.
11. Evans PJ, Midha R, Mackinnon SEJPin. The peripheral nerve allograft: a comprehensive review of regeneration and neuroimmunology. *Prog Neurobiol*. 1994; 43(3): 187-233.
12. Fawcett JW, Asher RAJBrb. The glial scar and central nervous system repair. *Brain Res Bull*. 1999; 49(6): 377-91.
13. Johnson EO, Soucacos PNJI. Nerve repair: experimental and clinical evaluation of biodegradable artificial nerve guides. *Injury*. 2008; 39(3): 30-6.
14. Stang F, Keilhoff G, Fansa HJM. Biocompatibility of different nerve tubes. *Materials*. 2009; 2(4): 1480-507.
15. Meek MF, Coert JH. US food and drug administration/conformit europe-approved absorbable nerve conduits for clinical repair of peripheral and cranial nerves. *Ann Plast Surg*. 2008; 60(1): 110-6.
16. Deng M, Chen G, Burkley D, Zhou J, Jamiolkowski D, Xu Y, et al. A study on in vitro degradation behavior of a poly (glycolide-co-L-lactide) monofilament. *Acta Biomater*. 2008; 4(5): 1382-91.
17. de Ruiter GC, Malessy MJ, Yaszemski MJDesigning ideal conduits for peripheral nerve repair. *Neurosurg Focus*. 2009; 26(2): E5.
18. She Z, Zhang B, Jin C, Feng Q, Xu Y. Preparation and in vitro degradation of porous three-dimensional silk fibroin/chitosan scaffold. *Polym Degrad Stabil*. 2008; 93(7): 1316-22.
19. Zhao Q, Dahlin LB, Kanje M, Lundborg G Repair of the transected rat sciatic nerve: matrix formation within implanted silicone tubes. *Restor Neurol Neurosci*. 1993; 5(3): 197-204.
20. Abdolmaleki A, Ghayour MB, Zahri S, Asadi A, Behnam-Rassouli M. Preparation of acellular sciatic nerve scaffold and it's mechanical and histological properties for use in peripheral nerve regeneration. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications*. 2019; 77(2): 115-22.
21. Millesi H, Zöch G, Reihnsner RJCo, Research R. Mechanical properties of peripheral nerves. *Clin Orthop Relat Res*. 1995; (314): 76-83.
22. Hollister SJ. Porous scaffold design for tissue engineering. *Nat Mater*. 2005; 4(7): 518-24.
23. Ahmed Z, Underwood S, Brown RJTE. Nerve guide material made from fibronectin: assessment of in vitro properties. *Tissue Eng*. 2003; 9(2): 219-31.
24. Zhang Y-G, Huang J-H, Hu X-Y, Sheng Q-S, Zhao W, Luo Z-JJPO. Omentum-wrapped scaffold with longitudinally oriented micro-channels promotes axonal regeneration and motor functional recovery in rats. *PLoS One*. 2011; 6(12): e29184.
25. Jiang X, Lim SH, Mao H-Q, Chew SYJEn. Current applications and future perspectives of artificial nerve conduits. *Exp Neurol*. 2010; 223(1): 86-101.
26. Vasita R, Katti DS. Nanofibers and their applications in tissue engineering. *Int J Nanomedicine*. 2006; 1(1): 15-30.

27. Snigdha S ST, Radhakrishnan EK. Polymer based tissue engineering strategies for neural regeneration. *Adv Tissue Eng Regen Med Open Access*. 2017; 2(1): 1-6.
28. Lee KY, Mooney DJ. Alginate: properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci*. 2012; 37(1): 106-26.
29. Shahriari D, Koffler J, Lynam DA, Tuszyński MH, Sakamoto JS. Characterizing the degradation of alginate hydrogel for use in multilumen scaffolds for spinal cord repair. *J Biomed Mater Res A*. 2016; 104(3): 611-9.
30. Suzuki Y, Kitaura M, Wu S, Kataoka K, Suzuki K, Endo K, et al. Electrophysiological and horseradish peroxidase-tracing studies of nerve regeneration through alginate-filled gap in adult rat spinal cord. *Neurosci Lett*. 2002; 318(3): 121-4.
31. Marchand R, Woerly S, Bertrand L, Valdes NJ. Evaluation of two cross-linked collagen gels implanted in the transected spinal cord. *Brain Res Bull*. 1993; 30(3-4): 415-22.
32. Barati DP, Roshanaei K, Sahab NS, Aligholi H, Alipour F, Darvishi M. Functional role of natural and synthetic scaffolds in tissue engineering of central nervous system. *Shefaye Khatam*. 2016; 4(1): 92-77
33. Gámez E, Goto Y, Nagata K, Iwaki T, Sasaki T, Matsuda T. Photofabricated gelatin-based nerve conduits: nerve tissue regeneration potentials. *Cell Transplant*. 2004; 13(5): 549-64.
34. Avitabile T, Marano F, Castiglione F, Bucolo C, Cro M, Ambrosio L, et al. Biocompatibility and biodegradation of intravitreal hyaluronan implants in rabbits. *Biomaterials*. 2001; 22(3): 195-200.
35. Özgenel GY. Effects of hyaluronic acid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. *Microsurgery*. 2003; 23(6): 575-81.
36. Ghayour MB, Abdolmaleki A, Fereidoni M. Role of extracellular matrix in peripheral nerve regeneration process. *RJMS*. 2015; 22(135): 75-88.
37. Subramanian A, Krishnan UM, Sethuraman S. Development of biomaterial scaffold for nerve tissue engineering: Biomaterial mediated neural regeneration. *J Biomed Sci*. 2009; 16(1): 108. doi: 10.1186/1423-0127-16-108.
38. Elbert DL, Hubbell J. Conjugate addition reactions combined with free-radical cross-linking for the design of materials for tissue engineering. *Biomacromolecules*. 2001; 2(2): 430-41.
39. Peppas NA, Keys KB, Torres-Lugo M, Lowman AM. Poly (ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery. *J Control Release*. 1999; 62(1-2): 81-7.
40. Nguyen KT, West JL. Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications. *Biomaterials*. 2002; 23(22): 4307-14.
41. Burdick JA, Ward M, Liang E, Young MJ, Langer R. Stimulation of neurite outgrowth by neurotrophins delivered from degradable hydrogels. *Biomaterials*. 2006; 27(3): 452-9.
42. Pierluigi T, Alessandro C, Igor P, Luigi V, Davide P, Stefano G, et al. Efficacy of anti-adhesion gel of carboxymethylcellulose with polyethylene oxide on peripheral nerve: experimental results on a mouse model. *Muscle Nerve*. 2016; 53(2): 304-9.
43. Athanasiou KA, Niederauer GG, Agrawal CM. Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers. *Biomaterials*. 1996; 17(2): 93-102.
44. Gunatillake PA, Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *Eur Cell Mater*. 2003; 5(1): 1-16.
45. Nomura H, Tator CH, Shoichet MS. Bioengineered strategies for spinal cord repair. *J Neurotrauma*. 2006; 23(3-4): 496-507.
46. Zheng Jun Lv, Yang L, Hui M, Zhi QL, Jian Hui G, Jing L. Effects of multiwalled carbon nanotubes on electrospun poly (lactide-co-glycolide)-based nanocomposite scaffolds on neural cells proliferation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2016; 105(5): 934-43.
47. Nomura H, Katayama Y, Shoichet MS, Tator CH. Complete spinal cord transection treated by implantation of a reinforced synthetic hydrogel channel results in syringomyelia and caudal migration of the rostral stump. *Neurosurgery*. 2006; 59(1): 183-92.
48. Tsai EC, Dalton PD, Shoichet MS, Tator CH. Matrix inclusion within synthetic hydrogel guidance channels improves specific supraspinal and local axonal regeneration after complete spinal cord transection. *Biomaterials*. 2006; 27(3): 519-33.
49. Tsai EC, Dalton PD, Shoichet MS, Tator CH. Synthetic hydrogel guidance channels facilitate regeneration of adult rat brainstem motor axons after complete spinal cord transection. *J Neurotrauma*. 2004; 21(6): 789-804.
50. Carone TW, Hasenwinkel JM, The Japanese society

- for biomaterials, biomaterials TASf, biomaterials tKSf. mechanical and morphological characterization of homogeneous and bilayered poly (2-hydroxyethyl methacrylate) scaffolds for use in CNS nerve regeneration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2006; 78(2): 274-82.
51. Hajj Hassan M, Chodavarapu V, Musallam SJS. NeuroMEMS: neural probe microtechnologies. *Sensors*. 2008; 8(10): 6704-26.
52. Ghasemi-Mobarakeh L, Prabhakaran MP, Morshed M, Nasr-Esfahani MH, Baharvand H, Kiani S, et al. Application of conductive polymers, scaffolds and electrical stimulation for nerve tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2011; 5(4): e17-e35.
53. Terenghi G. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J Anat*. 1999; 194(1): 1-14.
54. Pfister LA, Papaloizos M, Merkle HP, Gander B. Nerve conduits and growth factor delivery in peripheral nerve repair. *J Peripher Nerv Syst*. 2007; 12(2): 65-82.
55. Tayalia P, Mooney DJ. Controlled growth factor delivery for tissue engineering. *Adv Mater*. 2009; 21(32-33): 3269-85.
56. Chalfoun C, Wirth G, Evans G. Tissue engineered nerve constructs: where do we stand? *J Cell Mol Med*. 2006; 10(2): 309-17.
57. Taylor SJ, Rosenzweig ES, McDonald III JW, Sakiyama-Elbert SE. Delivery of neurotrophin-3 from fibrin enhances neuronal fiber sprouting after spinal cord injury. *J Control Release*. 2006; 113(3): 226-35.
58. Khaksar Z, Morovvati H, Moradi HR, Negah SS. The role of extracellular matrix in myelination and oligodendrogenesis of the central nervous system. *Shefaye Khatam*. 2019; 7(2):66-82
59. Yin Q, Kemp GJ, Yu LG, Wagstaff SC, Frostick SP. Neurotrophin-4 delivered by fibrin glue promotes peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve*. 2001; 24(3): 345-51.
60. Siegel GJ. Basic neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.
61. Fine EG, Decosterd I, Papaloizos M, Zurn AD, Aebischer P. GDNF and NGF released by synthetic guidance channels support sciatic nerve regeneration across a long gap. *Eur J Neurosci*. 2002; 15(4): 589-601.
62. Sahenk Z, Seharaseyon J, Mendell JR. CNTF potentiates peripheral nerve regeneration. *Brain Res*. 1994; 655(1-2): 246-50.
63. Rich KM, Alexander TD, Pryor JC, Hollowell JP. Nerve growth factor enhances regeneration through silicone chambers. *Exp Neurol*. 1989; 105(2): 162-70.
64. Bu SS, Li JR, Hu CZ, Zhao YF. The influence of exogenous nerve growth factor on inferior alveolar nerve regeneration in silicone tubes. *Chin J Dent Res*. 1999; 2(3-4): 44-8.
65. Boyd J, Gordon T. A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. *Eur J Neurosci*. 2002; 15(4): 613-26.
66. Boyd J, Gordon T. Glial cell line-derived neurotrophic factor and brain-derived neurotrophic factor sustain the axonal regeneration of chronically axotomized motoneurons in vivo. *Exp Neuro*. 2003; 183(2): 610-9.
67. Santos X, Rodrigo J, Hontanilla B, Bilbao G. Evaluation of peripheral nerve regeneration by nerve growth factor locally administered with a novel system. *J Neurosci Methods*. 1998; 85(1): 119-27.
68. Santos X, Rodrigo J, Hontanilla B, Bilbao G. Local administration of neurotrophic growth factor in subcutaneous silicon chambers enhances the regeneration of the sensory component of the rat sciatic nerve. *Microsurgery*. 1999; 19(6): 275-80.
69. Whitworth I, Brown R, Dore C, Anand P, Green C, Terenghi G. Nerve growth factor enhances nerve regeneration through fibronectin grafts. *J Hand Surg*. 1996; 21(4): 514-22.
70. Yang Y, Zhao W, He J, Zhao Y, Ding F, Gu X. Nerve conduits based on immobilization of nerve growth factor onto modified chitosan by using genipin as a crosslinking agent. *Eur J Pharm Biopharm*. 2011; 79(3): 519-25.
71. Benoit J-P, Faisant N, Venier-Julienne M-C, Menei P. Development of microspheres for neurological disorders: from basics to clinical applications. *J Control Release*. 2000; 65(1-2): 285-96.
72. Xu X, Yu H, Gao S, Mao H-Q, Leong KW, Wang S. Polyphosphoester microspheres for sustained release of biologically active nerve growth factor. *Biomaterials*. 2002; 23(17): 3765-72.
73. Xu X, Yee W-C, Hwang PY, Yu H, Wan AC, Gao S, et al. Peripheral nerve regeneration with sustained release of poly (phosphoester) microencapsulated nerve growth factor within nerve guide conduits. *Biomaterials*. 2003; 24(13): 2405-12.
74. Tan SA, Aebischer P. The problems of delivering neuroactive molecules to the CNS. Gregory R. Bock, Jamie A. Growth factors as drugs for neurological and

sensory disorders. 1996;p. 211-36.

75. Haller MF, Saltzman WM. Nerve growth factor delivery systems. *J Control Release*. 1998; 53: 1-6.

76. Starr PA, Wichmann T, van Horne C, Bakay RA. Intranigral transplantation of fetal substantia nigra allograft in the hemiparkinsonian rhesus monkey. *Cell Transplant*. 1999; 8(1): 37-45.

77. Sautter J, Tseng J, Braguglia D, Aebischer P, Spenger C, Seiler R, et al. Implants of polymer-encapsulated genetically modified cells releasing glial cell line-derived neurotrophic factor improve survival, growth, and function of fetal dopaminergic grafts. *Exp Neurol*. 1998; 149(1): 230-6.

78. Tuszynski MH, Weidner N, McCormack M, Miller I, Powell H, Conner J. Grafts of genetically modified Schwann cells to the spinal cord: survival, axon growth, and myelination. *Cell Transplant*. 1998; 7(2): 187-96.

79. Emerich DF, Hammang JP, Baetge EE, Winn SR. Implantation of polymer-encapsulated human nerve growth factor-secreting fibroblasts attenuates the behavioral and neuropathological consequences of quinolinic acid injections into rodent striatum. *Exp Neurol*. 1994; 130(1): 141-50.

80. Kordower JH, Winn SR, Liu Y-T, Mufson EJ, Sladek JR, Hammang JP, et al. The aged monkey basal forebrain: rescue and sprouting of axotomized basal forebrain neurons after grafts of encapsulated cells secreting human nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci*. 1994; 91(23): 10898-902.

81. Lindner MD, Winn SR, Baetge E, Hammang JP, Gentile FT, Doherty E, et al. Implantation of encapsulated catecholamine and GDNF-producing cells in rats with unilateral dopamine depletions and parkinsonian symptoms. *Exp Neuro*. 1995; 132(1):62-76

82. Aebischer P, Schluep M, Déglon N, Joseph J-M, Hirt L, Heyd B, et al. Intrathecal delivery of CNTF using encapsulated genetically modified xenogeneic cells in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Nat Med*. 1996; 2(6): 696-9.

83. Winn SR, Hammang JP, Emerich DF, Lee A, Palmiter RD, Baetge EE. Polymer-encapsulated cells genetically modified to secrete human nerve growth factor promote the survival of axotomized septal cholinergic neurons. *Proc Natl Acad Sci*. 1994; 91(6): 2324-8.

84. Xu XM, Guénard V, Kleitman N, Aebischer P, Bunge MB. A combination of BDNF and NT-3 promotes supraspinal axonal regeneration into Schwann cell grafts in adult rat thoracic spinal cord. *Exp Neuro*. 1995; 134(2): 261-72.

85. Babensee JE, McIntire LV, Mikos AG. Growth factor delivery for tissue engineering. *Pharm Res*. 2000; 17(5): 497-504.

86. Sensharma P, Madhumathi G, Jayant RD, Jaiswal AK. Biomaterials and cells for neural tissue engineering: current choices. *Mater Sci Eng C*. 2017; 77: 1302-15.

87. Shoichet S. *Principles of regenerative medicine*. 3<sup>rd</sup> ed. 2019; p. 1199-221.

88. Jesuraj NJ, Santosa KB, Macewan MR, Moore AM, Kasukurthi R, Ray WZ, et al. Schwann cells seeded in acellular nerve grafts improve functional recovery. *Muscle Nerve*. 2014; 49(2): 267-76.

89. Ghayour MB, Abdolmaleki A, Fereidoni M. Use of stem cells in the regeneration of peripheral nerve injuries: an overview. *Shefaye Khatam*. 2015; 3(1): 84-98.

90. Khataokar A, Skop N, Kim H, Pfister B, Cho CH. Development of schwann cell-seeded conduit using chitosan-based biopolymers for nerve repair. 36th Annual Northeast Bioengineering Conference (NEBEC). 2010.

91. Guenard V, Kleitman N, Morrissey T, Bunge R, Aebischer P. Syngeneic schwann cells derived from adult nerves seeded in semipermeable guidance channels enhance peripheral nerve regeneration. *J Neurosci*. 1992; 12(9): 3310-20.

92. Rodríguez FJ, Verdú E, Ceballos D, Navarro X. Nerve guides seeded with autologous Schwann cells improve nerve regeneration. *Exp Neurol*. 2000; 161(2): 571-84.

93. Mosahebi A, Woodward B, Wiberg M, Martin R, Terenghi G. Retroviral labeling of Schwann cells: in vitro characterization and in vivo transplantation to improve peripheral nerve regeneration. *Glia*. 2001; 34(1): 8-17.

94. Li X, Gonias SL, Campana WM. Schwann cells express erythropoietin receptor and represent a major target for Epo in peripheral nerve injury. *Glia*. 2005; 51(4): 254-65.

95. Ding F, Wu J, Yang Y, Hu W, Zhu Q, Tang X, et al. Use of tissue-engineered nerve grafts consisting of a chitosan/poly (lactic-co-glycolic acid)-based scaffold included with bone marrow mesenchymal cells for bridging 50-mm dog sciatic nerve gaps. *Tissue Eng Part A*. 2010; 16(12): 3779-90.

96. Yang Y, Yuan X, Ding F, Yao D, Gu Y, Liu J, et al. Repair of rat sciatic nerve gap by a silk fibroin-based scaffold added with bone marrow mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A*. 2011; 17(17-18): 2231-44.

97. Xue C, Hu N, Gu Y, Yang Y, Liu Y, Liu J, et al. Joint

- use of a chitosan/PLGA scaffold and MSCs to bridge an extra large gap in dog sciatic nerve. *Neurorehabil Neural Repair*. 2012; 26(1): 96-106.
98. Hu N, Wu H, Xue C, Gong Y, Wu J, Xiao Z, et al. Long-term outcome of the repair of 50 mm long median nerve defects in rhesus monkeys with marrow mesenchymal stem cells-containing, chitosan-based tissue engineered nerve grafts. *Biomaterials*. 2013; 34(1): 100-11.
99. Jakob H. Stem cells and embryo-derived cell lines: tools for study of gene expression. *Cell Differentiation*. 1984; 15(2-4): 77-80.
100. Rodrigues MCO, Rodrigues AA, Glover LE, Voltarelli J, Borlongan CV. Peripheral nerve repair with cultured schwann cells: getting closer to the clinics. *Sci World J*. 2012; 2012. doi: 10.1100/2012/413091
101. Cui L, Jiang J, Wei L, Zhou X, Fraser JL, Snider BJ, et al. Transplantation of embryonic stem cells improves nerve repair and functional recovery after severe sciatic nerve axotomy in rats. *Stem Cells*. 2008; 26(5): 1356-65.
102. Yohn DC, Miles GB, Rafuse VF, Brownstone RM. Transplanted mouse embryonic stem-cell-derived motoneurons form functional motor units and reduce muscle atrophy. *J Neurosci*. 2008; 28(47): 12409-18.
103. Craff MN, Zeballos JL, Johnson TS, Ranka MP, Howard R, Motarjem P, et al. Embryonic stem cell-derived motor neurons preserve muscle after peripheral nerve injury. *Plast Reconstr Surg*. 2007; 119(1): 235-45.
104. Gökhan Ş, Mehler MF. Basic and clinical neuroscience applications of embryonic stem cells. *Anat Rec*. 2001; 265(3): 142-56.
105. Alessandri G, Emanuelli C, Madeddu P. Genetically engineered stem cell therapy for tissue regeneration. *Ann N Y Acad Sci*. 2004; 1015(1): 271-84.
106. Heine W, Conant K, Griffin JW, Höke A. Transplanted neural stem cells promote axonal regeneration through chronically denervated peripheral nerves. *Exp Neuro*. 2004; 189(2): 231-40.
107. Xiong Y, Zeng Y-S, Zeng C-G, Du B-l, He L-M, Quan D-P, et al. Synaptic transmission of neural stem cells seeded in 3-dimensional PLGA scaffolds. *Biomaterials*. 2009; 30(22): 3711-22.
108. Guo B-F, Dong M-M. Application of neural stem cells in tissue-engineered artificial nerve. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2009; 140(2): 159-64.
109. Chiasson BJ, Tropepe V, Morshead CM, Van Der Kooy D. Adult mammalian forebrain ependymal and subependymal cells demonstrate proliferative potential, but only subependymal cells have neural stem cell characteristics. *J Neurosci*. 1999; 19(11): 4462-71.
110. Morshead CM, Reynolds BA, Craig CG, McBurney MW, Staines WA, Morassutti D, et al. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron*. 1994; 13(5): 1071-82.
111. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci*. 1996; 16(6): 2027-33.
112. Palmer TD, Takahashi J, Gage FH. The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells. *Mol Cell Neurosci*. 1997; 8(6): 389-404.
113. Horner PJ, Power AE, Kempermann G, Kuhn HG, Palmer TD, Winkler J, et al. Proliferation and differentiation of progenitor cells throughout the intact adult rat spinal cord. *J Neurosci*. 2000; 20(6): 2218-28.
114. Weiss S, Dunne C, Hewson J, Wohl C, Wheatley M, Peterson AC, et al. Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis. *J Neurosci*. 1996; 16(23): 7599-609.
115. Bambakidis NC, Wang R-Z, Franic L, Miller RH. Sonic hedgehog-induced neural precursor proliferation after adult rodent spinal cord injury. *J Neurosurg Spine*. 2003; 99(1): 70-5.
116. Ben-Hur T, Einstein O, Mizrahi-Kol R, Ben-Menachem O, Reinhartz E, Karussis D, et al. Transplanted multipotential neural precursor cells migrate into the inflamed white matter in response to experimental autoimmune encephalomyelitis. *Glia*. 2003; 41(1): 73-80.
117. Ishibashi S, Sakaguchi M, Kuroiwa T, Yamasaki M, Kanemura Y, Shizuko I, et al. Human neural stem/progenitor cells, expanded in long-term neurosphere culture, promote functional recovery after focal ischemia in mongolian gerbils. *J Neurosci Res*. 2004; 78(2): 215-23.
118. Fricker-Gates RA, Shin JJ, Tai CC, Catapano LA, Macklis JD. Late-stage immature neocortical neurons reconstruct interhemispheric connections and form synaptic contacts with increased efficiency in adult mouse cortex undergoing targeted neurodegeneration. *J Neurosci*. 2002; 22(10): 4045-56.

119. Nakagomi N, Nakagomi T, Kubo S, Nakano-Doi A, Saino O, Takata M, et al. Endothelial cells support survival, proliferation, and neuronal differentiation of transplanted adult ischemia-induced neural stem/progenitor cells after cerebral infarction. *Stem Cells*. 2009; 27(9): 2185-95.
120. Dziejczapolski G, Lie D, Ray J, Gage F, Shults C. Survival and differentiation of adult rat-derived neural progenitor cells transplanted to the striatum of hemiparkinsonian rats. *Exp Neurol*. 2003; 183(2): 653-64.
121. Herrera DG, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Adult-derived neural precursors transplanted into multiple regions in the adult brain. *Ann Neurol*. 1999; 46(6): 867-77.
122. Karimi-Abdolrezaee S, Eftekharpour E, Wang J, Schut D, Fehlings MG. Synergistic effects of transplanted adult neural stem/progenitor cells, chondroitinase, and growth factors promote functional repair and plasticity of the chronically injured spinal cord. *J Neurosci*. 2010; 30(5):1657-76.
123. Abdallah B, Kassem M. Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications. *Gene Ther*. 2008; 15(2): 109-16.
124. Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair-current views. *Stem Cells*. 2007; 25(11): 2896-902.
125. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells*. 2001; 19(3): 180-92.
126. Deryugina E, Müller-Sieburg C. Stromal cells in long-term cultures: keys to the elucidation of hematopoietic development? *Crit Rev Immunol*. 1993; 13(2): 115-50.
127. Brun P, Cortivo R, Zavan B, Vecchiato N, Abatangelo G. In vitro reconstructed tissues on hyaluronan-based temporary scaffolding. *J Mater Sci: Mater Med*. 1999; 10(10-11): 683-8.
128. Horwitz E, Dominici M. How do mesenchymal stromal cells exert their therapeutic benefit? *Cytherapy*. 2008; 10(8): 771-4.
129. Keilhoff G, Fansa H. Mesenchymal stem cells for peripheral nerve regeneration-a real hope or just an empty promise? *Exp Neurol*. 2011; 232(2): 110-3.
130. Chopp M, Li Y. Treatment of neural injury with marrow stromal cells. *Lancet Neurol*. 2002; 1(2): 92-100.
131. Chopp M, Zhang XH, Li Y, Wang L, Chen J, Lu D, et al. Spinal cord injury in rat: treatment with bone marrow stromal cell transplantation. *Neuroreport*. 2000; 11(13): 3001-5.
132. Gu Y, Wang J, Ding F, Hu N, Wang Y, Gu X. Neurotrophic actions of bone marrow stromal cells on primary culture of dorsal root ganglion tissues and neurons. *J Mol Neurosci*. 2010; 40(3): 332-41.
133. Lee Y-S, Livingston Arinzeh T. Electrospun nanofibrous materials for neural tissue engineering. *Polymers*. 2011; 3(1): 413-26.